

# $\beta$ -内啡肽在齐口裂腹鱼消化道和脑中的定位分布

王悦<sup>①</sup> 杨丽珠<sup>②</sup> 方静<sup>②\*</sup> 彭西<sup>②\*</sup> 樊均德<sup>③</sup>

① 四川农业大学动物科技学院 成都 611130; ② 四川农业大学动物医学院 成都 611130;

③ 铜仁学院生物与农林工程学院 铜仁 554300

**摘要:**  $\beta$ -内啡肽属内源性阿片肽,广泛存在于胃肠道及脑组织中,发挥着多种生理功能。本文采用链霉亲和素-生物素复合物免疫组织化学技术研究 $\beta$ -内啡肽在齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)消化道和脑中的定位分布。食道、后肠呈 $\beta$ -内啡肽阴性反应,口咽腔、前肠及中肠呈 $\beta$ -内啡肽阳性反应,阳性细胞多分布于黏膜上皮之间,呈圆形、卵圆形、蝌蚪形、梭形、锥形等。 $\beta$ -内啡肽阳性细胞分布密度在前肠最高,中肠次之,口咽腔最低。 $\beta$ -内啡肽定位于间脑、中脑、小脑神经元及中脑神经纤维中,其阳性神经元密度在中隆起最高,下丘脑中叶前球核、下丘脑下叶次之,侧膝核、前圆核、下圆核、中纵束旁及小脑瓣浦肯野氏细胞层较低,下丘脑下叶乳头体、中脑基部下缘最低。 $\beta$ -内啡肽在消化道的分布与该鱼食性及消化道结构、功能密切相关; $\beta$ -内啡肽在脑区的分布特性,推测与其参与调节不同脑区的神经内分泌活动有关。综上所述, $\beta$ -内啡肽广泛分布于齐口裂腹鱼消化道及脑内,进一步证实它是一种双重分布的脑肠肽。本研究为 $\beta$ -内啡肽可能参与调节消化、神经内分泌活动提供了形态学证据。

**关键词:**  $\beta$ -内啡肽; 齐口裂腹鱼; 消化道; 脑; 免疫组织化学

中图分类号: Q786 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2016) 03-404-09

## The Distributive Patterns of $\beta$ -endorphin in the Digestive Tract and Brain of *Schizothorax prenanti*

WANG Yue<sup>①</sup> YANG Li-Zhu<sup>②</sup> FANG Jing<sup>②\*</sup> PENG Xi<sup>②\*</sup> FAN Jun-De<sup>③</sup>

① College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130; ② College of Veterinary Medicine,

Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130; ③ College of Biological and Agro-forestry Engineering,

Tongren University, Tongren 554300, China

**Abstract:**  $\beta$ -endorphin is a kind of brain-gut peptide which plays important physiological roles. The

**基金项目** 教育部长江学者和创新团队发展计划项目 (No. 0848), 贵州省教育厅工程中心建设项目 (黔教合KY [2012] 028号), 贵州省教育厅高等学校重点支持学科 (黔教合重点支持学科字[2011] 232号);

\* 通讯作者, E-mail: fangjing4109@163.com; pengxi197313@163.com;

**第一作者介绍** 王悦, 女, 本科生; 研究方向: 水产养殖; E-mail: wangyue20120642@163.com.

收稿日期: 2015-09-09, 修回日期: 2015-12-31 DOI: 10.13859/j.cjz.201603008

distributive patterns of  $\beta$ -endorphin in the digestive tract and brain of *Schizothorax prenanti* were studied using strept avidin-biotin complex (SABC) immunocytochemical method.  $\beta$ -endorphin-positive cells were observed through Olympus microscope and the number and optical density of  $\beta$ -endorphin-positive cells were measured using image analysis software and expressed as Mean  $\pm$  SD. The results showed that the positive immunoreactions presented brown yellow color (Plate I: 1 - 14), while negative control in the foregut showed only hematoxylin staining (Plate I: 15). There was no  $\beta$ -endorphin-positive reaction in the esophagus or hindgut.  $\beta$ -endorphin-positive cells were detected in the oropharyngeal cavity (Plate I: 1), foregut (Plate I: 2) and midgut (Plate I: 3), with various shapes including round, ovoid, tadpole-like, spindle-like and cone-like cells. The density of  $\beta$ -endorphin-positive cells in the digestive tract was the highest in the foregut ( $13.10 \pm 4.50$  number/mm<sup>2</sup>), medium in the midgut ( $10.08 \pm 2.96$  number/mm<sup>2</sup>) and the lowest in the oropharyngeal cavity ( $8.52 \pm 3.72$  number/mm<sup>2</sup>) (Table 1).  $\beta$ -endorphin-positive reaction was located in the neurons of diencephalon (Plate I: 4 - 9), mesencephalon (Plate I: 11 - 13) and metencephalon (Plate I: 14), and the nerve fibers of mesencephalon (Plate I: 10). The density of  $\beta$ -endorphin-positive neurons in the brain was the highest in the eminentia medialis ( $248.42 \pm 84.25$  number/mm<sup>2</sup>), medium in the nucleus anterior tuberis of medium lobe of hypothalamus ( $150.42 \pm 15.08$  number/mm<sup>2</sup>) and inferiors lobes of hypothalamus ( $141.80 \pm 45.36$  number/mm<sup>2</sup>), lower in the nucleus geniculatus lateralis ( $98.44 \pm 28.34$  number/mm<sup>2</sup>), nucleus prerotundus ( $86.21 \pm 18.45$  number/mm<sup>2</sup>), nucleus subrotundus ( $92.81 \pm 11.19$  number/mm<sup>2</sup>), side of fasciculus longitudinalis medialis ( $95.10 \pm 8.23$  number/mm<sup>2</sup>) and layer of purkinje cells of cerebella valvula ( $88.73 \pm 41.20$  number/mm<sup>2</sup>), and the lowest in the corpus mammillare of inferiors lobes of hypothalamus ( $60.72 \pm 10.39$  number/mm<sup>2</sup>) and upper area of tegmentum ( $47.27 \pm 11.95$  number/mm<sup>2</sup>) (Table 1). The distribution patterns of  $\beta$ -endorphin-positive cells in the digestive tract of *S. prenanti* are greatly related to its feeding habits, intestinal functions and structures as well. The distributive characteristics of  $\beta$ -endorphin-positive cells in the brain may be relevant to neuroendocrine activities in different areas of the brain.  $\beta$ -endorphin was widely distributed in the digestive tract and brain of *S. prenanti*, further suggesting that this molecule is a kind of brain-gut peptide. This study has provided morphological evidence for regulation of digestive and neuroendocrine activities by  $\beta$ -endorphin.

**Key words:**  $\beta$ -endorphin; *Schizothorax prenanti*; Digestive tract; Brain; Immunocytochemical method

$\beta$ -内啡肽 ( $\beta$ -endorphin,  $\beta$ -EP) 属内源性阿片肽, 广泛存在于胃肠道及脑组织中, 发挥着多种生理功能 (谢启文 2004)。 $\beta$ -内啡肽在胃肠道是重要的抑制性激素, 在中枢参与调节某些垂体激素的分泌释放 (Oyama et al. 1982) 及各种神经活动, 如缓解疼痛, 刺激摄食, 调节应激、体温、学习记忆、情绪和血压等 (谢启文 2004)。 $\beta$ -内啡肽在消化道内的定位分布研究主要集中在哺乳动物, 在大鼠 (*Rattus norvegicus*) (Orwoll et al. 1980)、豚鼠 (*Cavia*

*porcellus*) (Leander et al. 1984)、条纹原海豚 (*Stenella coeruleoalba*) (Domenighini et al. 1997) 等消化道中均有  $\beta$ -内啡肽阳性表达。该研究在鱼类方面的报道较少, 目前仅见白斑角鲨 (*Squalus acanthias*) (El-Salhy 1984)、褐鳟 (*Salmo trutta*) (Dezfuli et al. 2002) 及鲮鱼 (*Mugil cephalus*) (翁幼竹等 2003) 消化道中存在  $\beta$ -内啡肽阳性细胞, 而大多数鱼类消化道中检测不到  $\beta$ -内啡肽阳性表达 (Rombout et al. 1986, 潘黔生等 1996, 林树根等 2003, Mola

et al. 2004)。β-内啡肽在脑中的定位分布研究涉及大鼠 (Zakarian et al. 1982)、蜥蜴 (*Lacerta muralis*) (Vallarino 1986)、林蛙 (*Rana temporaria*) (Doerr-Schott et al. 1981)、牛眼鲷 (*Boops boops*) (Vallarino 1985)、虹鳟 (*Salmo gairdneri*) (Vallarino et al. 1989) 及低等动物南美白对虾 (*Penaeus vannamei*) (叶海辉等 2004) 和文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri*) (翁幼竹等 2002) 等。

齐口裂腹鱼 (*Schizothorax prenanti*) 又名“雅鱼”，属鲤科 (Cyprinidae) 裂腹鱼亚科 (Schizothoracinae)，主要分布于大渡河、青衣江水系上游，是名贵经济鱼类。随着生态环境的破坏及捕捞强度的增大，其资源量急剧下降。目前，未见 β-内啡肽在齐口裂腹鱼消化道和脑中定位分布的研究报道。本文应用链霉亲和素-生物素复合物 (strept avidin-biotin complex, SABC) 免疫组织化学技术对齐口裂腹鱼消化道和脑中 β-内啡肽的定位分布进行研究，为其可能参与调节消化、神经内分泌活动提供形态学证据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 取样与制片

齐口裂腹鱼 5 尾 (购自雅安水产市场，来源于青衣江)，体长 30 ~ 40 cm，体重 600 ~ 1 200 g，于清水中暂养 24 h 后，活体解剖，取口咽腔、食道、前肠、中肠及后肠，立即投入 Bouin 液中固定，石蜡切片，片厚 6 μm。同时，取全脑，-20℃ 保存，连续冰冻切片，片厚 20 μm。

### 1.2 链霉亲和素-生物素复合物 (SABC) 免疫组织化学染色

石蜡切片脱蜡水化后，以 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 灭活内源性过氧化物酶 10 min，置于正常山羊血清 (工作浓度 1 : 10，武汉博士德生物工程有限公司) 中室温孵育 20 min，再进入一抗 (兔抗 β-内啡肽多克隆抗体，工作浓度 1 : 100，武汉博士德生物工程有限公司) 4℃ 孵育 17 h，又分别在生

物素化二抗 (工作浓度 1 : 100，武汉博士德生物工程有限公司) 和 SABC (工作浓度 1 : 100，武汉博士德生物工程有限公司) 中 37℃ 孵育 20 min，最后以二氨基联苯胺 (3,3'-diaminobenzidine, DAB，武汉博士德生物工程有限公司) 显色，苏木精轻度复染，以上步骤均用 PBS 冲洗，全程在蒸馏水配制的湿盒中进行。冰冻切片复温后以 0.6% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 甲醇溶液代替 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，不经过苏木素复染，其余步骤同石蜡切片。对照片以 PBS 替代一抗，其余步骤同实验片。

### 1.3 观察及测定

每尾鱼每个组织随机选取 5 张切片，在 Olympus 显微镜下观察，用 NikonDS-Ri1 数码显微摄像系统照相。用江苏捷达 801 形态分析软件测量图像中 β-内啡肽阳性细胞的数密度和光密度 (点击鼠标，图像进入 801 形态分析软件，用“颜色”选项标记图像中的 β-内啡肽阳性细胞，点击“计算”选项，软件将自动计算出所选阳性细胞的数密度和光密度)。数密度表示免疫阳性细胞分布密度；光密度表示免疫阳性反应强度，光密度值越大表明阳性反应越强。数据均以平均值 ± 标准差 (Mean ± SD) 表示。

## 2 结 果

### 2.1 β-内啡肽阳性细胞在消化道中的分布

食道、后肠为 β-内啡肽阴性反应，口咽腔、前肠及中肠为 β-内啡肽阳性反应 (图版 I : 1 ~ 3)。阳性颗粒定位于细胞质，呈棕黄色。β-内啡肽阳性细胞多分布于黏膜上皮之间，形态多样。在口咽腔多呈圆形或卵圆形 (图版 I : 1)。前肠 β-内啡肽阳性细胞有的呈蝌蚪状，可见细长胞突伸向基膜；有的呈长梭形，中部略膨大，两端突起分别伸向基膜与肠腔；有的呈锥形，胞体较大，突起细小；有的呈圆形或卵圆形，无胞突 (图版 I : 2)。中肠 β-内啡肽阳性细胞形态与前肠相似 (图版 I : 3)。β-内啡肽阳性细胞密度在前肠最高，中肠次之，口咽腔最低 (表 1)。

表 1  $\beta$ -内啡肽阳性细胞在齐口裂腹鱼消化道及脑中的数密度及光密度Table 1 The number density and optical density of  $\beta$ -endorphin-positive cells in the digestive tract and brain of *Schizothorax prenanti*

	分布 Location	数密度 (个/mm <sup>2</sup> ) Number density (number/mm <sup>2</sup> )	光密度 Optical density
消化道 Digestive tube	口咽腔 Oropharyngeal cavity	8.52 ± 3.72	0.20 ± 0.03
	前肠 Foregut	13.10 ± 4.50	0.27 ± 0.02
	中肠 Midgut	10.08 ± 2.96	0.25 ± 0.04
间脑 Diencephalon	侧膝核 Nucleus geniculatus lateralis	98.44 ± 28.34	0.18 ± 0.02
	前圆核 Nucleus prerotundus	86.21 ± 18.45	0.26 ± 0.03
	下圆核 Nucleus subrotundus	92.81 ± 11.19	0.27 ± 0.02
	下丘脑中叶前球核 Nucleus anterior tuberis of medium lobe of hypothalamus	150.42 ± 15.08	0.17 ± 0.01
	下丘脑下叶 Inferiors lobes of hypothalamus	141.80 ± 45.36	0.24 ± 0.01
	下丘脑下叶乳头体 Corpus mammillare of inferiors lobes of hypothalamus	60.72 ± 10.39	0.25 ± 0.03
	中脑 Mesencephalon	中脑基部上缘 Upper area of tegmentum	47.27 ± 11.95
	中隆起 Eminentia medialis	248.42 ± 84.25	0.19 ± 0.01
	中纵束旁 Side of fasciculus longitudinalis medialis	95.10 ± 8.23	0.28 ± 0.03
小脑 Metencephalon	小脑瓣浦肯野氏细胞层 Layer of Purkinje cells of cerebella valvula	88.73 ± 41.20	0.27 ± 0.02

## 2.2 $\beta$ -内啡肽阳性细胞在脑中的分布

齐口裂腹鱼脑分端脑、间脑、中脑、小脑和延脑。端脑由嗅球、嗅束和大脑半球构成。间脑包括上丘脑、丘脑及下丘脑。上丘脑主要由脑上腺、缰核组成。丘脑位于上丘脑腹面,主要有侧膝核、前丘脑核、圆核、前圆核、下圆核、后丘脑核,其中侧膝核位于丘脑前部,向脑的侧面突出;圆核体积较大,前面为前圆核,腹面为下圆核。下丘脑紧接丘脑腹侧,包括中叶、左右两下叶与脑下垂体,中叶里边大部分是前球核,下叶介于圆核尾部与侧叶尾部中间的结构为乳头体。中脑由背部视盖和腹部中脑基部、大脑脚组成。中脑基部两侧与视盖相接处各有一突起,为中脑丘,两丘之间即中隆起;中脑腹部中间有一显著纵纤维束,为中纵束。小脑位于中脑后方,其前部与视盖相连的膜为小脑瓣,小脑瓣分三层,由外向内依次为分子层、浦肯野氏细胞层及颗粒层。延脑位于脑最后部。

$\beta$ -内啡肽阳性反应定位于间脑、中脑、小

脑神经元及中脑神经纤维中,阳性颗粒定位于胞质,呈棕黄色。在各脑区中,中隆起  $\beta$ -内啡肽阳性细胞密度最高,下丘脑中叶前球核、下丘脑下叶次之,侧膝核、前圆核、下圆核、中纵束旁及小脑瓣浦肯野氏细胞层较低,下丘脑下叶乳头体、中脑基部下缘最低(表 1)。

间脑:侧膝核内  $\beta$ -内啡肽阳性细胞胞体多呈锥形、三角形(图版 I: 4)。前圆核  $\beta$ -内啡肽阳性细胞较大,胞体多呈圆形、近圆形;前圆核中还可见较小阳性神经元,胞体呈锥形或梨形(图版 I: 5)。下圆核  $\beta$ -内啡肽阳性细胞较大,胞体多为梨形、角锥形,部分细胞具细长胞突(图版 I: 6)。下丘脑中叶前球核  $\beta$ -内啡肽阳性细胞较小,胞体呈近圆形、梭形,成群分布(图版 I: 7)。下丘脑下叶  $\beta$ -内啡肽阳性细胞较小,胞体多呈锥形或梨形,散在分布(图版 I: 8)。下丘脑下叶乳头体  $\beta$ -内啡肽阳性细胞较大,胞体多呈三角形、椭圆形,多具细长胞突(图版 I: 9)。

中脑:中脑视盖浅层有较大  $\beta$ -内啡肽阳性

纤维束，背侧多纵向排列，腹侧多横向或斜向排列。视盖深层  $\beta$ -内啡肽阳性纤维束比浅层粗大，但分布较稀疏，某些区域又集合成较密集纤维束（图版 I：10）。中脑基部下缘  $\beta$ -内啡肽阳性细胞较大，胞体呈圆形或椭圆形（图版 I：11）。中隆起  $\beta$ -内啡肽阳性细胞小而密集，胞体多为圆形、梨形、锥形（图版 I：12）。中纵束神经纤维密集，其旁侧有少量  $\beta$ -内啡肽阳性神经元，胞体呈圆形，角锥形、梨形或蝌蚪形（图版 I：13）。

小脑：小脑浦肯野氏细胞层  $\beta$ -内啡肽阳性细胞较大，胞体呈椭圆形、锥形或梨形（图版 I：14）。

### 3 讨论

#### 3.1 $\beta$ -内啡肽在消化道中的分布及意义

有关鱼类消化道  $\beta$ -内啡肽细胞分布的研究报道较少。白斑角鲨仅在十二指肠发现  $\beta$ -内啡肽阳性细胞，呈细长柱状，为开放型（El-Salhy 1984），褐鳟肠道中也存在该类细胞（Dezfuli et al. 2002）。翁幼竹等（2003）发现鲮鱼肠道中  $\beta$ -内啡肽阳性细胞呈卵圆形或椭圆形，不具胞质突起，分布密度后肠最高、前肠次之、中肠最少，而贝鲃（*Barbus conchoni*）（Rombout et al. 1986）、鲢（*Hypophthalmichthys molitrix*）、鳙（*Aristichthys nobilis*）、银鲫（*Carassius gibelio*）、团头鲂（*Megalobrama amblycephala*）（潘黔生等 1996）、日本鳗鲡（*Anguilla japonicus*）（林树根等 2003）及欧洲鲈（*Dicentrarchus labrax*）（Mola et al. 2004）肠道中均未检出  $\beta$ -内啡肽阳性细胞。本研究观察到齐口裂腹鱼口咽腔、前肠及中肠均有  $\beta$ -内啡肽阳性细胞分布，前肠密度最高，中肠次之，口咽腔最低，这种分布型与鲮鱼（翁幼竹等 2003）不同。口咽腔中存在激素分泌细胞，这一现象在鱼类鲜见。说明齐口裂腹鱼口咽腔不仅是输送食物的器官，其分泌的  $\beta$ -内啡肽也可能参与消化功能及相关机能的调节，对此尚需进一步研究证实。 $\beta$ -内啡肽在一些鱼类的消化

道被检测到，而在另一些鱼类的消化道未被检测到，这可能与动物种属有关，或与所使用的哺乳动物的  $\beta$ -内啡肽抗血清与硬骨鱼肠道中相应类型的内分泌细胞不发生免疫反应有关。

有报道表明， $\beta$ -内啡肽通过作用于肠道神经系统及中枢神经系统抑制肠道激素及消化酶的分泌（Bueno et al. 1988），同时减缓胃排空及小肠转运（张宏博等 1995，周吕等 1999）。本研究结果显示，齐口裂腹鱼前肠  $\beta$ -内啡肽阳性细胞密度较高，推测其分泌物可控制肠道活动强度，减缓食物排空速度，促进食物充分消化吸收，这对植物食性和无胃型的鱼类来说十分重要。本文观察到肠道  $\beta$ -内啡肽阳性细胞形态多样，主要有蝌蚪状、长梭形、锥形、圆形及卵圆形，前三种具胞突，为开放型，而后两种无胞突，为封闭型，这与白斑角鲨全为开放型（El-Salhy 1984）、鲮鱼全为封闭型（翁幼竹等 2003）不同。刘丽丽（2004）认为，不同形态的  $\beta$ -内啡肽阳性细胞可能通过自分泌和旁分泌方式参与调节胃肠消化、吸收、蠕动及微环境稳定。

#### 3.2 有关 $\beta$ -内啡肽在脑中的分布及意义

有关  $\beta$ -内啡肽在脊椎动物脑中的定位分布已有一些报道。较低等的文昌鱼脑中  $\beta$ -内啡肽的分布区域相当于鱼类下丘脑（翁幼竹等 2002）。在爬行动物如蜥蜴， $\beta$ -内啡肽定位于下丘脑室旁核背后侧、腹内侧核尾部及正中隆起，中脑动眼神核及水管周灰质，小脑浦肯野氏细胞核周体及轴突（Vallarino 1986）。在禽类， $\beta$ -内啡肽阳性细胞主要分布于下丘脑腹外侧核、下丘脑室旁核、视前区室旁核和视前大细胞核（雷治海 1994）。在高等哺乳类， $\beta$ -内啡肽神经元胞体分布于下丘脑弓状核和延髓孤束核；位于下丘脑弓状核区的  $\beta$ -内啡肽神经元，其纤维投射至中脑导水管周围灰质、脑桥的蓝斑核和壁旁核（Oyama et al. 1982）。海七鳃鳗（*Petromyzon marinus*）（Nozaki et al. 1984）脑中  $\beta$ -内啡肽阳性表达主要位于下丘脑；牛眼鲷脑内  $\beta$ -内啡肽分布于视前核背腹侧，侧结节核、

小脑浦肯野氏细胞胞体及其延伸至分子层中的突起 (Vallarino 1985);  $\beta$ -内啡肽免疫阳性细胞分布于胡子鲇 (*Clarias batrachus*) 嗅神经、中嗅束、侧嗅束、侧结节核 (Sarkar et al. 2000, 2001); 虹鳟脑中 $\beta$ -内啡肽阳性神经元主要位于下丘脑侧球核 (Vallarino et al. 1989)。在高等动物,  $\beta$ -内啡肽在中枢水平直接参与调控催乳素 (prolactin, PRL)、促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH)、生长激素 (growth hormone, GH)、卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH)、和促黄体激素 (luteinizing hormone, LH) 等垂体激素的分泌释放 (Oyama et al. 1982)。Vallarino (1985) 在牛眼鲷的研究中提出,  $\beta$ -内啡肽作为一种垂体调节因子或神经调质而发挥作用, 这一功能在动物系统发育中具有古老性和稳定性。在金鱼 (*Carassius auratus*) 中证实 $\beta$ -内啡肽还可调节摄食 (Pedro et al. 1995)。在胡子鲇的研究中显示 $\beta$ -内啡肽可能参与生殖及与生殖相关的信号调节 (Sarkar et al. 2001)。可见,  $\beta$ -内啡肽在低等和高等动物脑中广泛分布, 并发挥多种生理功能。

本研究观察到  $\beta$ -内啡肽在齐口裂腹鱼间脑、中脑和小脑中均有表达, 这与其他低等和高等动物具有相似性。但是, 齐口裂腹鱼脑内的  $\beta$ -内啡肽阳性神经元在中脑中隆起密度最高, 下丘脑中叶前球核、下丘脑下叶次之, 侧膝核、前圆核、下圆核、中纵束旁及小脑瓣浦肯野氏细胞层较低, 下丘脑下叶乳头体、中脑基部下缘最低。这种分布型与蜥蜴 (Vallarino 1986)、文昌鱼 (翁幼竹等 2002)、海七鳃鳗 (Nozaki et al. 1984)、牛眼鲷 (Vallarino 1985)、胡子鲇 (Sarkar et al. 2000, 2001) 等鱼类、禽类 (雷洽海 1994) 及人 (Oyama et al. 1982) 不同。本文观察到齐口裂腹鱼下丘脑中叶前球核、下丘脑下叶有较多  $\beta$ -内啡肽阳性细胞, 下丘脑下叶乳头体也有少量  $\beta$ -内啡肽阳性细胞, 这种分布特点为  $\beta$ -内啡肽对鱼类垂体激素的调控提供了形态学证据, 同时也表明,  $\beta$ -内啡肽

在齐口裂腹鱼下丘脑中的分布位置与上述动物存在一定差异。鱼类中脑是视觉和平衡中枢, 齐口裂腹鱼中脑中隆起内  $\beta$ -内啡肽阳性细胞密度最高, 中纵束旁、中脑基部下缘也有一定数量的  $\beta$ -内啡肽阳性神经元, 同时, 中脑视盖浅层和深层有较大  $\beta$ -内啡肽阳性纤维束, 提示  $\beta$ -内啡肽可能参与上述有关中脑功能的调节。与牛眼鲷 (Vallarino 1985) 类似, 齐口裂腹鱼的小脑瓣浦肯野氏细胞也呈  $\beta$ -内啡肽阳性反应, 推测可能参与鱼体平衡和运动功能的调节。

综上所述,  $\beta$ -内啡肽广泛分布于齐口裂腹鱼肠道及脑内, 进一步证实它是一种双重分布的脑肠肽。但本文研究仅对 $\beta$ -内啡肽在消化道及脑中的分布提供形态学证据, 至于其生理功能尚需进一步研究。

## 参 考 文 献

- Bueno L, Fioramonti J. 1988. 7 Action of opiates on gastrointestinal function. *Gastrointestinal Neurophysiology*, 2(1): 123-139.
- Dezfuli B S, Pironi F, Giari L, et al. 2002. Effect of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) on putative neuromodulators in the intestine of naturally infected *Salmo trutta*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 51(1): 27-35.
- Doerr-Schott J, Dubois M P, Lichte C. 1981. Immunohistochemical localisation of substances reactive to antisera against  $\alpha$  and  $\beta$ -endorphin and met-enkephalin in the brain of *Rana temporaria*. *Cell and Tissue Research*, 217(1): 79-92.
- Domenechini C, Arrighi S, Massoletti P. 1997. Localization of regulatory peptides in the gastrointestinal tract of the striped dolphin, *Stenella coeruleoalba* (Mammalia, Cetacea): an immunohistochemical study. *European Journal of Histochemistry*, 41(4): 285-300.
- El-Salhy M. 1984. Immunocytochemical investigation of the gastro-entero-pancreatic (GEP) neurohormonal peptides in the pancreas and gastrointestinal tract of the dogfish *Squalus acanthias*. *Histochemistry*, 80(2): 193-205.
- Leander S, Ekman R, Uddman R, et al. 1984. Neuronal cholecystokinin, gastrin-releasing peptide, neurotensin, and  $\beta$ -endorphin in the intestine of the guinea pig. *Cell and Tissue*

- Research, 235(3): 521–531.
- Mola L, Bertacchi I, Gambarelli A, et al. 2004. Occurrence of ACTH- and enkephalin-like peptides in the developing gut of *Dicentrarchus labrax* L. *General and Comparative Endocrinology*, 136(1): 23–29.
- Nozaki M, Gorbman A. 1984. Distribution of immunoreactive sites for several components of pro-opiomelanocortin in the pituitary and brain of adult lampreys, *Petromyzon marinus* and *Entosphenus tridentatus*. *General and Comparative Endocrinology*, 53(3): 335–352.
- Orwoll E S, Kendall J W. 1980.  $\beta$ -endorphin and adrenocorticotropin in extrapituitary sites: gastrointestinal tract. *Endocrinology*, 107(2): 438–442.
- Oyama T, Yamaya R, Jin T, et al. 1982. Effect of exogenous  $\beta$ -endorphin on anterior pituitary hormone secretion in man. *Acta Endocrinol*, 99(1): 9–13.
- Pedro N, Delgado M J, Alonso-Bedate M. 1995. Central administration of  $\beta$ -endorphin increases food intake in goldfish: pretreatment with the opioid antagonist naloxone. *Regulatory Peptides*, 55(2): 189–195.
- Rombout J H W M, van der Grinten C, Binkhorst P F M, et al. 1986. Immunocytochemical identification and localization of peptide hormones in the gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrine system of the mouse and a stomachless fish, *Barbus conchoniis*. *Histochemistry*, 84(4): 471–483.
- Sarkar S, Subhedar N. 2000.  $\beta$ -Endorphin and gonadotropin-releasing hormone in the forebrain and pituitary of the female catfish, *Clarias batrachus*: double-immunolabeling study. *General and Comparative Endocrinology*, 118(1): 39–47.
- Sarkar S, Subhedar N. 2001. Seasonal changes in  $\beta$ -Endorphin-like immunoreactivity in the olfactory system of the female catfish, *Clarias batrachus* (Linn.). *General and Comparative Endocrinology*, 123(2): 127–136.
- Vallarino M. 1985. Occurrence of beta-endorphin-like immunoreactivity in the brain of the teleost, *Boops boops*. *General and Comparative Endocrinology*, 60(1): 63–69.
- Vallarino M. 1986.  $\beta$ -Endorphin-like immunoreactivity in the brain of the lizard, *Lacerta muralis*. *General and Comparative Endocrinology*, 64(1): 52–59.
- Vallarino M, Delbende C, Bunel D T, et al. 1989. Proopiomelanocortin (POMC)-related peptides in the brain of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Peptides*, 10(6): 1223–1230.
- Zakarian S, Smyth D G. 1982. Distribution of beta-endorphin related peptides in rat pituitary and brain. *Biochemical Journal*, 202(3): 561–571.
- 雷治海. 1994. 家禽下丘脑神经肽分布定位的研究进展. *畜牧与兽医*, 26(6): 275–278.
- 林树根, 吴德峰, 王寿昆. 2003. 日本鳗鲡胃肠胰内分泌细胞的鉴别与定位. *水产学报*, 27(6): 513–518.
- 刘丽丽. 2004. 厦门文昌鱼和皱瘤海鞘消化道内分泌功能的比较研究. 福建: 国家海洋局第三海洋研究所硕士学位论文.
- 潘黔生, 方之平. 1996. 鲢, 鳙, 银鲫和团头鲂肠道内分泌细胞中3种肽激素的免疫组化研究. *水生生物学报*, 20(4): 311–316.
- 翁幼竹, 方永强. 2002. 神经肽Y和 $\beta$ -内啡肽样免疫阳性物质在文昌鱼神经系统和哈氏窝的分布. *实验生物学报*, 35(3): 205–210.
- 翁幼竹, 方永强. 2003. 神经肽Y和 $\beta$ -内啡肽内分泌细胞在鳊鱼肠道中的分布和形态. *水生生物学报*, 27(6): 619–624.
- 谢启文. 2004. 神经肽. 上海: 复旦大学出版社, 93–96.
- 叶海辉, 王桂忠, 金朱兴, 等. 2004. 南美白对虾视神经节和脑免疫细胞化学研究. *海洋与湖沼*, 35(1): 78–83.
- 张宏博, 张忠兵. 1995. 人胃, 十二指肠黏膜SS, AVP, PK和 $\beta$ -EP含量测定及其临床意义. *第四军医大学学报*, 16(3): 208–210.
- 周吕, 柯美云. 1999. 胃肠动力学: 基础与临床. 北京: 科学出版社, 89.

## 图 版 说 明

$\beta$ -内啡肽阳性细胞在齐口裂腹鱼消化道及脑中的定位分布, 链霉亲和素-生物素复合物 (SABC) 免疫组化染色

1. 口咽腔  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 2. 前肠  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 3. 中肠  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 4. 侧膝核  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 5. 前圆核  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 6. 下圆核  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 7. 下丘脑中叶前球核  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 8. 下丘脑下叶  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 9. 下丘脑下叶乳头体  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 10. 视盖深层  $\beta$ -内啡肽阳性纤维; 11. 中脑基部下缘  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 12. 中隆起  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 13. 中纵束旁  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 14. 小脑瓣浦肯野氏细胞层  $\beta$ -内啡肽阳性细胞; 15. 前肠阴性对照为单一苏木素染色。

## Explanation of Plate

The distributive patterns of  $\beta$ -endorphin-positive cells in the digestive tract and brain of *Schizothorax prenanti*, as revealed by streptavidin biotin peroxidase complex (SABC) immunocytochemical staining

1.  $\beta$ -EP-positive cells in the oropharyngeal cavity; 2.  $\beta$ -EP-positive cells in the foregut; 3.  $\beta$ -EP-positive cells in the midgut; 4.  $\beta$ -EP-positive cells in the nucleus geniculatus lateralis; 5.  $\beta$ -EP-positive cells in the nucleus prerotundus; 6.  $\beta$ -EP-positive cells in the nucleus subrotundus; 7.  $\beta$ -EP-positive cells in the nucleus anterior tuberculi of medium lobe of hypothalamus; 8.  $\beta$ -EP-positive cells in the inferior lobes of hypothalamus; 9.  $\beta$ -EP-positive cells in the corpus mammillare of inferior lobes of hypothalamus; 10.  $\beta$ -EP-positive nerve fibers in the deep zone of stratum opticum; 11.  $\beta$ -EP-positive cells in the upper area of the tegmentum; 12.  $\beta$ -EP-positive cells in the eminentia medialis; 13.  $\beta$ -EP-positive cells in the side of fasciculus longitudinalis medialis; 14.  $\beta$ -EP-positive cells in the Purkinje cells layer of cerebellar valvula; 15. Negative control in the foregut showing only hematoxylin staining.

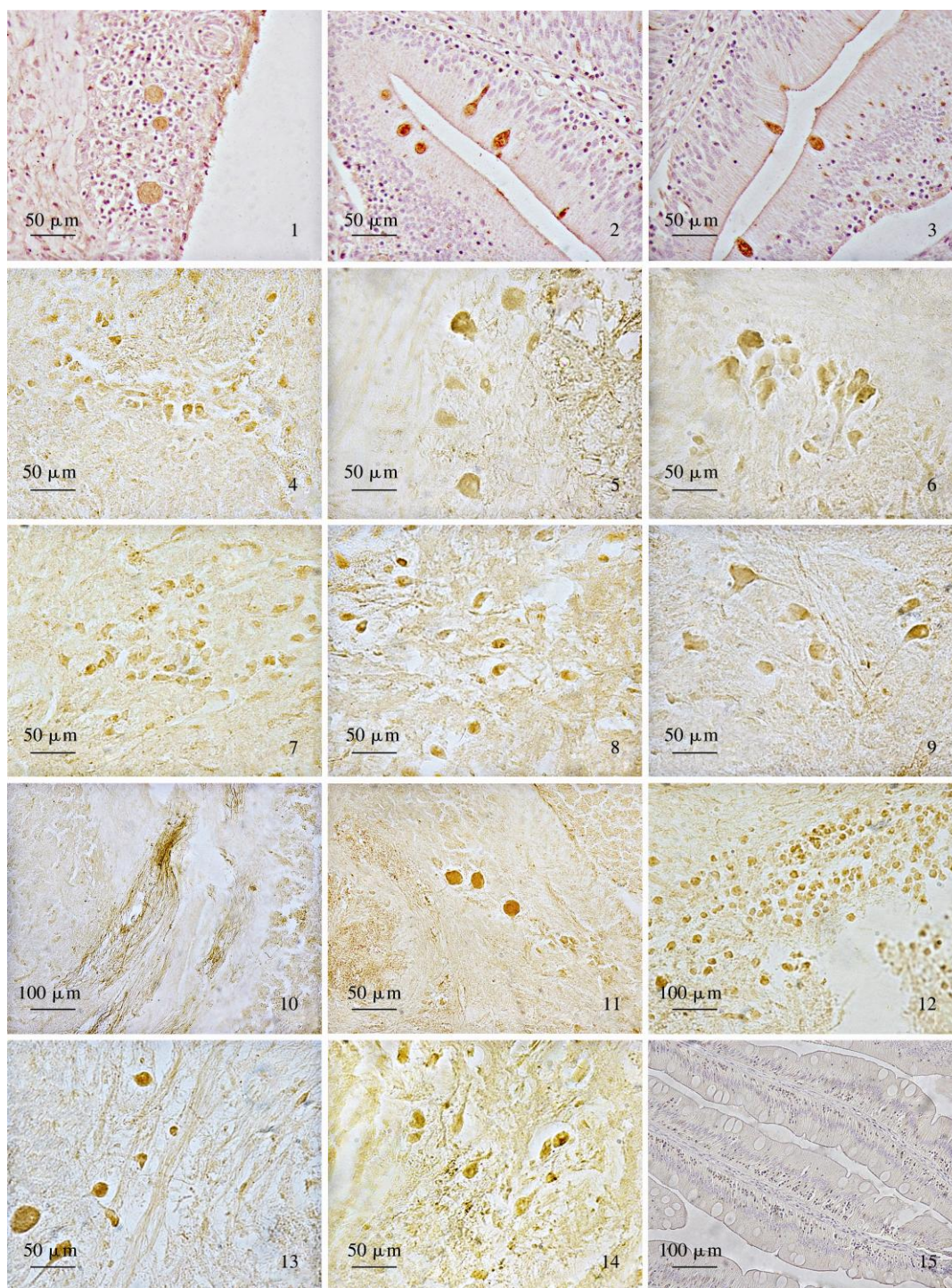


王 悦等:  $\beta$ -内啡肽在齐口裂腹鱼消化道和脑中的定位分布

图版 I

WANG Yue *et al.*: The Distributive Patterns of  $\beta$ -endorphin in the Digestive Tract and Brain of *Schizothorax prenanti*

Plate I



图版说明见文后